

Method for producing a 3-D micro flow cell and a 3-d micro flow cell

Patent number: JP2004508548T

Publication date: 2004-03-18

Inventor:

Applicant:

Classification:

- International: G01N21/05; C12M1/34; G01N33/48; G01N37/00

- european: B81B1/00; B81B1/00H2; G01N27/447C7

Application number: JP20020524686T 20010903

Priority number(s): DE20001044333 20000907; DE20011004957 20010203;
WO2001DE03324 20010903

Also published as:



WO0221115 (A1)

US2004038387 (A1)

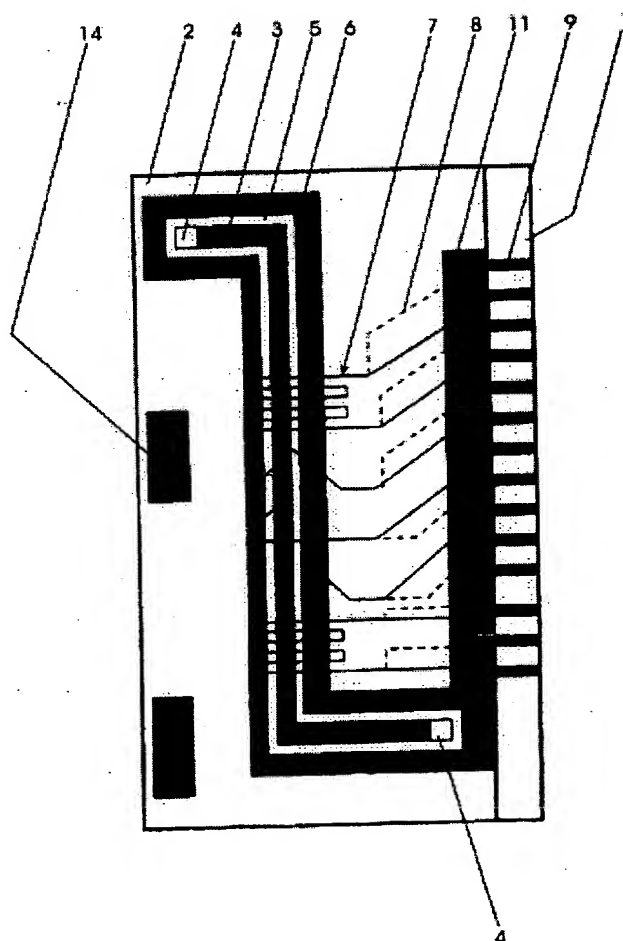
DE10104957 (A1)

Report a data error here

Abstract not available for JP2004508548T

Abstract of corresponding document: **US2004038387**

A 3D micro flow cell is fabricated by forming a first spacer on a substrate to define the flow channel of the cell extending between inlet and outlet openings. A second spacer, comprising a pasty adhesive is applied outside the first spacer or in a groove on the first spacer to seal the cell when the first substrate is joined to a second substrate.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-508548

(P2004-508548A)

(43) 公表日 平成16年3月18日 (2004.3.18)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 21/05	G 0 1 N 21/05	2 G 0 4 5
C 1 2 M 1/34	C 1 2 M 1/34	2 G 0 5 7
// G 0 1 N 33/48	G 0 1 N 33/48	4 B 0 2 9
G 0 1 N 37/00	G 0 1 N 37/00 1 0 1	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 4 7 頁)

(21) 出願番号 特願2002-524686 (P2002-524686)
 (86) (22) 出願日 平成13年9月3日 (2001.9.3)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年3月6日 (2003.3.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/DE2001/003324
 (87) 国際公開番号 WO2002/021115
 (87) 国際公開日 平成14年3月14日 (2002.3.14)
 (31) 優先権主張番号 100 44 333.8
 (32) 優先日 平成12年9月7日 (2000.9.7)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)
 (31) 優先権主張番号 101 04 957.9
 (32) 優先日 平成13年2月3日 (2001.2.3)
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), JP, US

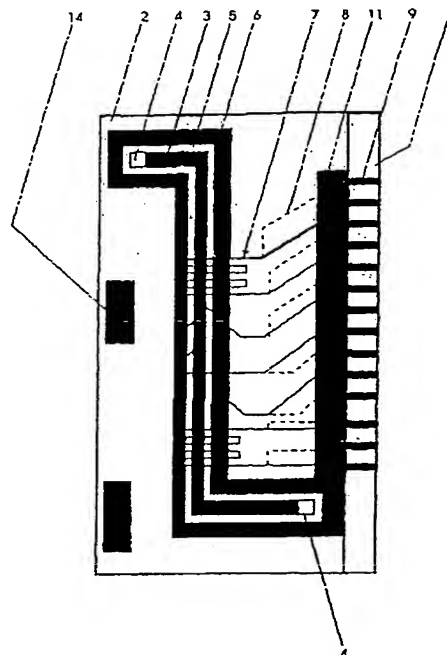
(71) 出願人 501300665
 ゲーシム・ゲゼルシャフト・フューア・ジ
 リーツィウム・ミクロジステーメ・ミト・
 ベシュレンクテル・ハフツング
 ドイツ連邦共和国、01454 グロースエル
 クマンスドルフ、パウツナー・ラントスト
 ラーセ、45 ロッセンドルファー・テヒノ
 ロギーツェントルム
 (74) 代理人 100069556
 弁理士 江崎 光史
 (74) 代理人 100092244
 弁理士 三原 恒男
 (74) 代理人 100093919
 弁理士 奥村 義道

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 3次元マイクロフローセルを製造する方法及び3次元マイクロフローセル

(57) 【要約】

本発明は、3次元マイクロフローセルを製造する方法及びこの方法にしたがって製造されたマイクロフローセルに関する。本発明の課題は、安価に実現可能であり、特に一定な幾何学パラメータによって実現可能である方法を提供することにある。流路 (3) をこの流路 (3) の両側で仕切るスペーサ I (5)、及び、ほとんど圧縮不可能な材料又は硬化可能な材料から成る所定の高さの追加の間隔ホルダ (14) が、少なくとも下基板 (1) の上に取り付けられる。このスペーサ I 及びこの間隔ホルダは、取付け後に下基板又は上基板に不可逆的に動かないように接合される。パスタ状の接着剤が、スペーサ I (6) として流路の外側でスペーサ I (5) を平行に包囲するように均一な厚さで塗布される。引続き、上基板 (2) が、下基板 (1) の上で位置決めされ、力の作用下と熱の作用下でこの下基板 (1) に接合される。この場合、流路 (3) が、同時に密閉される。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

1本の流路が下基板と上基板との間に配置されているこの下基板とこの上基板とから構成され、外部接触子に接続されている電極構造体がこの流路を貫通し、この場合、これらの基板のうちの少なくとも1つの基板が、導体テープ構造体と電極構造体を少なくとも有し、かつ流路の両端部に液体供給部と液体排出部を連結するための貫通接触部を有する3次元マイクロフローセルを製造する方法において、流路(3)をこの流路(3)の両側で仕切るスペーサI(5)、及び、ほとんど圧縮不可能な材料又は硬化可能な材料から成る所定の高さの追加の間隔ホルダ(14)が、少なくとも下基板(1)の上に取り付けられ、このスペーサI及びこの間隔ホルダは、取付け後に下基板又は上基板(1;2)に不可逆的に動かないように接合されること、パスタ状の接着剤が、スペーサII(6)として流路の外側で均一な厚さで塗布されること、引続き、上基板(2)が、下基板(1)の上で位置決めされ、力の作用下と熱の作用下でこの下基板(1)に接合され、この場合、流路(3)が、同時に密閉されることを特徴とする方法。

10

【請求項 2】

スペーサII(6)が、スペーサI(5)のすぐ隣にこのスペーサIを平行に包囲するように形成され、この場合、取付け前のスペーサII(6)の厚さは、スペーサI(5)の高さよりも大きいことを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

スペーサIに沿って延在する1本の浅い凹部を、スペーサI(5)の表面に形成すること、そしてパスタ状のスペーサII(6)をこの浅い凹部内に沿って分散させるか又はプリントすることを特徴とする請求項1に記載の方法。

20

【請求項 4】

浅い凹部は、フォトリソグラフ法によって製造されることを特徴とする請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

スペーサI(5)と間隔ホルダ(14)が、シルクスクリーン・プリンティングや下基板(1)上への分散を用いて形成され、引続き硬化されることを特徴とする請求項1又は2に記載の方法。

30

【請求項 6】

硬化は、加熱作用によって及び／又は紫外線照射のような光照射によって実施されることを特徴とする請求項4に記載の方法。

【請求項 7】

スペーサI(5)と間隔ホルダ(14)が、少なくとも下基板(1)の上でフォトリソグラフィ法を用いて、又は分散によって製造され、引続き加熱によって硬化されることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項 8】

スペーサI(5)と間隔ホルダ(14)は、感光可能なレジストから製造され、レジストの厚さが、流路(3)の高さを決定することを特徴とする請求項7に記載の方法。

40

【請求項 9】

スペーサI(5)と間隔ホルダ(14)は、少なくとも片側を接着性に構造化された金属膜又は重合体膜から製造され、少なくとも下基板(1)の上に貼付されることを特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項 10】

上基板(2)と下基板との接合は、圧力及び熱及び／又は紫外線ビームの作用下で実施されることを特徴とする請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 11】

接着剤が、エポキシ樹脂又はシリコンゴムを母材としたスペーサII(6)として使用されることを特徴とする請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 12】

50

下基板と上基板を有し、この場合、液体の貫通接触部を有する流路が、これらの基板間に配置されていて、外部接触子に接続されている電極系が、この流路を貫通する請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項に記載の方法にしたがって製造される 3 次元マイクロフローセルにおいて、下基板 (1) の上に流路 (3) を形成するスペーサ I (5)、及び所定の高さのほとんど圧縮不可能な材料又は硬化可能な材料から成る追加の間隔ホルダ (14) が少なくとも配置されていて、下基板又は上基板 (1 ; 2) に不可逆的に動かないように接合されていること、及び、この上基板 (2) は、流路 (3) を密閉するようにパスタ状で硬化可能なスペーサ II (6) としての接着剤層によって下基板 (1) に接合されていることを特徴とする 3 次元マイクロフローセル。

10

【請求項 13】

スペーサ II (6) が、スペーサ I (5) の外側の流路 (3) の外側の両側でこのスペーサ I (5) の外側に沿ってストリップ状に延在していることを特徴とする請求項 12 に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 14】

パスタ状のスペーサ II (6) を収納するための 1 本の浅い凹部が、スペーサ I (5) の表面に沿って形成されていることを特徴とする請求項 12 に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 15】

スペーサ I (5) の厚さと間隔ホルダ (14) の厚さは同じであり、かつ $10 \mu\text{m}$ と $100 \mu\text{m}$ との間にあることを特徴とする請求項 12 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

20

【請求項 16】

少なくとも下基板 (1) は、ガラス製であり、かつ $250 \mu\text{m} \dots 1000 \mu\text{m}$ の厚さを有することを特徴とする請求項 12 ～ 15 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 17】

上基板 (2) は、合成樹脂の薄膜から成ることを特徴とする請求項 10 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 18】

上基板 (2) は、厚さが $170 \dots 200 \mu\text{m}$ の重合体の薄膜から成ることを特徴とする請求項 17 に記載の 3 次元マイクロフローセル。

30

【請求項 19】

流路 (3) の領域が、少なくとも $250 \sim 450 \text{ nm}$ の範囲内で光学的に透明であることを特徴とする請求項 12 ～ 18 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 20】

少なくとも上基板 (2) 又は下基板 (1) が、金属の微小電極 (13) を有し、これらの微小電極 (13) は、予め設定された 3 次元の幾何的な関係で向き合って存在すること、及び、この上基板 (2) は、表を下にして下基板 (1) の上に取り付けられていることを特徴とする請求項 12 ～ 19 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

40

【請求項 21】

上基板 (2) の微小電極 (13) は、接触パッド (10) を有し、伝導性接着剤、伝導性ゴム又は半田パッドによって下基板 (1) 上の外部接触子 (9) に電気接続されていることを特徴とする請求項 20 に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 22】

微小電極 (13) は、白金、金、タンタル、チタン、アルミニウム又は ITO から成ることを特徴とする請求項 12 ～ 21 のいずれか 1 項に記載の 3 次元マイクロフローセル。

【請求項 23】

上基板又は下基板 (2 ; 1) 上の電極系と端子系が、有機的な又は無機的な絶縁材料を用いて全面的に絶縁されていて、この場合、この絶縁材料は、流路の内部で、接触パッド上で及び接触支持部上で白抜きにされていることを特徴とする請求項 12 ～ 22 のいずれか

50

1項に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項24】

流路の縁領域が覆われているものの、この流路の中央領域は露出されたままであるように、光を通さないブラインド(17)が、上基板(2)の外側に取り付けられていることを特徴とする請求項12~23のいずれか1項に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項25】

ブラインド(17)は、吊された細胞を作用する電磁波から守るシールドとして形成されていることを特徴とする請求項24に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項26】

ブラインド(17)は、金属製であることを特徴とする請求項25に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項27】

ブラインド(17)は、感光可能なCuの薄膜又はAlの薄膜から成ることを特徴とする請求項26に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項28】

ブラインド(17)は、取り外し可能であることを特徴とする請求項25~27のいずれか1項に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項29】

接着剤を収容するための1本の溝又はスペーサI(5)に沿って延在する凹部が、このスペーサI(5)に沿って形成されていることを特徴とする請求項12~28のいずれか1項に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項30】

フォトレジストから成るスペーサI及びプリントされたシリコンゴムから成るスペーサIIが、加硫後に摩擦連結的に液体密閉的にかつ可逆的に互いに接合されていることを特徴とする請求項12に記載の3次元マイクロフローセル。

【請求項31】

下基板(1)の上にフォトリソグラフィ法で形成されたスペーサI(5)がスペーサI(5)とスペーサII(6)の平行配置にほぼ一致する幅を有すること、及び、上基板(2)が粘着力によって下基板(1)に固定されていることを特徴とする請求項12に記載の3次元マイクロフローセル。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、1枚の下基板と1枚の上基板とから構成された3次元マイクロフローセルを製造する方法に関する。1本の流路が、この下基板とこの上基板との間に配置されている。外部接触子に接続されている電極構造体が、この流路を貫通する。この場合、これらの基板の少なくとも一方の基板が、まず導体構造体と電極構造体を有し、この流路の両端部に液体供給部と液体排出部に連結するための貫通接触部を有する。さらに、本発明は、この方法によって製造された3次元マイクロフローセルに関する。

【0002】

このような3次元マイクロフローセルは、例えば絶縁性の生物粒子、特に細胞及び／又はバクテリア若しくはビールの取扱いと分析用の細胞マニピュレータとして使用される。この目的のために、マイクロフローセルは、1本の流路を備える。1つ又は多数の液体供給部と液体排水部が、この流路の端部に設けられている。これらの液体供給部と液体排水部は、例えば流路に対して垂直に延在する貫通接触部によって製造される。液体流路の高さは、一般に数マイクロメートルの範囲内にある。この場合、この流路の上と下は、ガラス基板及び／又はシリコン基板によって囲まれ、その横は、対応する流路壁によって仕切られる。個々の細胞を液体流路内部の所定の場所に「拘束されずに浮遊して“freischwebend”」固定可能であるため、電極が液体流路内に存在する。これらの電極は、電圧の印加時に電場を形成する。このとき、これらの静電的に固定された細胞は、適切な照明によって照らされ得、顕微鏡を用いて観察され得る。このような3次元構造を

実現可能にするため、いろいろな技術が一般に公知である。すなわち、1本の流路をガラス基板内に形成するため、ガラス基板の片側が、ウェットケミカルエッチングされ得、次いで拡散溶接を用いてカバー要素としての第2ガラス基板に接合される。細胞又は生物粒子の取扱いに必要な電極が、フォトリソグラフィの公知の方法を用いて第1ガラス基板及び/又は第2ガラス基板上に予め取付けられる。次いで、第2ガラス基板が、下のガラス基板上に裏返しに取付けられる。

【0003】

拡散溶接技術は、確かに比較的高価であり、一般にガラスの等方性構造の可能性には限界がある。その他の欠点は、比較的に粗い電極構造体しか構造化されたガラス面上に取付けられ得ない点に認められる。個々の細胞又は生物粒子の精確な取扱いを実現できるようにするため、この粒子を静電的に所望の場所で非接触式に操作して固定できるようにするためには、しかしながら電極の極めて精確な幾何学構造が必要である。その他の技術が、Mueller/Gradl/Howitz/Shirley-Schnelle/Fuhrによって雑誌“BIOSENSORS & ELECTRONICS”, Heft 14 (1999), 第247~256頁中に記されている。この場合、ほとんど手動的なエポキシ樹脂接着技術が使用される。この場合、まず、ポリマー・スペーサが、予め白金電極と電気導体テープを具備したガラス面上に形成される。引続き、ガラス基板が、接着剤としての合成樹脂、例えばエポキシ樹脂で被覆される。その後、同様に電極を有する第2ガラスが、この上に位置決めされる。この接合部分は、後で押圧される。この取付けステップは、一般にいわゆるダイ・ボンダー(チップ・ボンダー)によって実施される。

10

20

【0004】

障害は、常に精確で同じ幾何学寸法を有し、これらの寸法において流路の一部を狭くする接着剤が取付け工程の間に流路内に確実に浸入しないマイクロフローセルを製造することに問題がある点に認められる。それ故に、このステップの効率は、極めて不十分であり、大量生産には適さない。

【0005】

さらに、いわゆるアンダーフィラー技術が公知である。このアンダーフィラー技術では、ポリマー1(Dicklack)が、電極を有するガラス基板上に形成される。この場合、形成される重合体の厚さが、設けられている流路の高さによって予め設定される。このとき、有利な流路系が、この重合体から形成される。すなわち、余分な Dicklack が、この露光形成(Fotostrukturierung)の間に完全に除去される。引続き、第2ガラス基板が、第1ガラス基板に対して調整され押圧される。こうして得られたこの3次元配置は、横から浸入する接着剤(アンダーフィラー)によって重合体2に固定される。その後、重合体1中の流路系が、溶剤によって再び洗浄される。この場合、この溶媒は、重合体2を侵食してはならない。流れ要素が重合体2によって得られないので、これらの内部流れ要素を流路内のこの経路上に形成不可能である点がここでの特有な欠点である。しかも、この技術は、極めて時間がかかり、かつ構造的な分解能に関して限界がある。

30

【0006】

本発明の課題は、安価に実現可能であり、特に一定な幾何学パラメータで実現可能である3次元マイクロフローセルを製造する方法を提供することにある。さらに、本発明は、この本発明の方法によって安価に製造可能である3次元マイクロフローセルを提供することにある。

40

【0007】

この課題は、1本の流路が、1枚の下基板と1枚の上基板との間に配置されていて、外部接触子に接続されている電極構造体が、この流路を貫通し、この場合、これらの基板の少なくとも一方の基板が、まず導体構造体と電極構造体を有し、この流路の両端部に液体供給部と液体排出部とに連結するための貫通接触部を有する、この下基板とこの上基板とから構成された3次元マイクロフローセルを製造する方法の場合、流路をこの流路の両側で仕切るスペーサI、及び、ほとんど圧縮不可能な材料又は硬化可能な材料から成る所定の

50

高さの追加の間隔ホルダが、少なくとも下基板の上に取り付けられ、このスペーサ I 及びこの間隔ホルダは、取付け後に下基板又は上基板に不可逆的に動かないように接合されること、パスタ状の接着剤が、スペーサ I I として流路の外側で均一な厚さで形成されること、引続き、上基板が、下基板の上で位置決めされ、力の作用下と熱の作用下でこの下基板に接合され、この場合、流路が、同時に密閉されることによって解決される。

【0008】

簡単に実現されるこの方法は、流路を狭くしうる接着剤が流路内に浸入するという危険が存在することなしに、一方では流路の極めて精確な幾何学寸法を保証し、他方では流路の完全でかつ簡単な密閉を保証する。

【0009】

本発明の最初の続きでは、スペーサ I I が、スペーサ I のすぐ隣にこのスペーサ I を平行に包囲するように形成される。この場合、取付け前のスペーサ I I の厚さは、スペーサ I の高さよりも大きい。

【0010】

本発明に固有の別形態では、スペーサ I が、このスペーサ I に沿って延在する 1 本の凹部を有し、パスタ状のスペーサ I I が、この凹部に沿って分散されるか又はプリントされる。上基板を下基板の上に載せるときに、そして続く押圧のときに、接着剤（スペーサ I I）が流路内に浸入することが、この別形態によって阻止される。さらに、より大きいスペーサの高さも問題なく実現することができる。

【0011】

これらの平坦な凹部は、フォトリソグラフィの従来の手段によって製造され得る。いろいろな可能性が、スペーサ I と間隔ホルダの製造に対して存在する。すなわち、スペーサ I と間隔ホルダが、シルクスクリーン・プリンティングや下基板上への分散を用いて形成され、引続き硬化され得る。この場合、この硬化は、例えば加熱作用によってか又は光照射若しくは紫外線照射によって実施され得る。

【0012】

その他の可能性は、スペーサ I と間隔ホルダを下基板の上にフォトリソグラフィ法を用いて製造し、引続き加熱することによって硬化する点にある。特に、これに対して、スペーサ I と間隔ホルダが、露光形成可能なレジストから製造され得る。この場合、残りの厚さが、流路の高さを決定する。フォトリソグラフィ法は、シルクスクリーン・プリンティングに比べてより僅かな凹凸性を可能にし、同時により高い精度を可能にする。その結果、より細かい構造が製造され得る。

【0013】

もう 1 つの可能性は、スペーサ I と間隔ホルダを少なくとも片側が粘着性の予め形成された金属の薄膜又は重合体の薄膜から製造し、下基板上に接着することにある。

【0014】

上基板を下基板の上に固定するため、すなわち 3 次元構造にするため、特にエポキシ樹脂又はシリコンゴムの母材を用いた接着剤が、スペーサ I I として使用される。上基板と下基板とは、圧力及び熱及び／又は光の照射若しくは紫外線の照射の下で接合される。

【0015】

本発明の課題は、1 枚の下基板と 1 枚の上基板とから構成された 3 次元マイクロフローセルによってさらに解決される。この場合、液体の貫通接触部を有する 1 本の流路が、基板と基板との間に配置されている。外部接触子に接続されている電極系が、この流路を貫通する。下基板の上に流路を形成するスペーサ I、及び所定の高さのほとんど圧縮不可能な材料又は硬化可能な材料から成る追加の間隔ホルダが少なくとも配置されていて、下基板又は上基板に不可逆的に動かないように接合されていること、及び、流路を密閉しパスタ状で硬化可能な接着剤層によってスペーサ I I を形成するように、上基板が下基板に接合されていることをこの 3 次元マイクロフローセルは特徴とする。

【0016】

本発明の第 1 の構成では、スペーサ I I が、スペーサ I の外側の流路の外側の両側にこれ

10

20

30

40

50

らのスペーサを平行に包囲するように存在する。

【0017】

本発明の第2の構成では、パスタ状のスペーサIIを収納するための1本の浅い凹部が、スペーサIの表面に沿って形成されている。これによって、上基板を下基板の上に取り付ける工程の間に、接着剤が流路内に浸入することが確実に回避される。

【0018】

スペーサIと間隔ホルダの厚さは、同じ大きさにする必要があり、流路の予め設定された高さに応じて $10\ \mu\text{m}$ と 1mm との間になくてはならない。

【0019】

本発明の続きでは、両ガラス基板のうちの少なくとも一方の基板が、 $250\ \mu\text{m} \cdots 1000\ \mu\text{m}$ の厚さを有し得、その他方の基板が $500\ \mu\text{m} \cdots 100\ \mu\text{m}$ の厚さを有し得る。したがって、接合部分が、機械的に十分な安定性を有すると同時に、高分解能の顕微鏡検査の用途に適している。

【0020】

上基板は、合成樹脂の薄膜、例えば厚さが $170\ \mu\text{m} \sim 200\ \mu\text{m}$ の重合体の薄膜から形成され得る。

【0021】

本発明の別の構成は、流路の領域が少なくとも $250\ \mu\text{m} \sim 450\ \mu\text{m}$ の波長範囲内で光学的に透過性であることを特徴とする。このことは、下基板と上基板に対して材料を適切に選択することによって実現され得る。

【0022】

本発明は、その他の特別な構成では、少なくとも上基板又は下基板がそれぞれ、金属の微小電極を有し、これらの微小電極は、予め設定された3次元の幾何的な関係で向き合って存在すること、及び、上基板が表を下にして下基板の上に取り付けられていることを特徴とする。上基板の微小電極は、接触パッドを有し、伝導性接着剤、伝導性ゴム又は半田パッドによって下基板上の外部接触子に電気接続されている。

【0023】

微小電極は、白金、金、タンタル、チタン、アルミニウム又は伝導性のITO (Indium-Tin-Oxide) 製の薄膜系から構成され得る。

【0024】

本発明の特別な構成では、上基板と下基板の電極系と端子系が、無機物の絶縁材料を用いて全面的に絶縁されている。この場合、十分に電気的な接触をこれらの地点で可能にするため、絶縁材料が、流路の内部で、接触パッド上で及び接触支持部上で白抜きにされている。

【0025】

一流路を形成する一スペーサIの重合体によって光の励起時に引き起こされる固有ルミネセンスを光学顕微鏡による検出の間に隠すため、流路の縁領域が覆われているものの、この流路の中央領域は露出されたままであるように、少なくとも光を通さないブラインドが、上基板の外側に取り付けられている。このようなブラインドの特別な利点は、流路を仕切る材料のこのとき同時に誘因となるルミネセンスが邪魔な影響を及ぼすことなしに、生物細胞に対するルミネセンスに基づく検査が流路内で実施可能である点である。

【0026】

ブラインドは、好ましくは電磁波と生体電気波に対する内部と外部とからの遮蔽としても形成され得る。これによって、場合によっては作用する電磁ビームが、細胞自体に有害な影響を及ぼし、これによって検出結果に悪影響を及ぼすことが確実に阻止される。

【0027】

最も簡単な場合、ブラインドは金属製である。この場合、このブラインドをフォトリソグラフィ法で形成可能な薄膜、例えばCu又はAlから形成してもよい。

【0028】

この薄膜は、目的に合わせて剥離可能でなくてはならない。その結果、流路が、必要な場

10

20

30

40

50

合に全幅内で光学的に検査され得る。

【0029】

接着フィルムが流路内部に形成されることを可能な限り阻止するため、本発明の特別な続きでは、スペーサⅠが、その接触面に沿って1本の溝を有するか、又は取り付け工程の間に接着剤を収容するためにこの溝に沿って延在する別の凹部を有する。

【0030】

特別な場合、上基板が下基板に取り外し可能に接合されていることが望ましい。これに対し、本発明の特別な別形態は、スペーサⅠがフォトレジストから成り、スペーサⅠⅠがプリントされたシリコンゴムから成り、上基板と下基板が、加硫後に摩擦連結的に液体密閉的にかつ可逆的に互いに接合されていることを特徴とする。これによって、この3次元マイクロフローセルを使用後に再び開けて、必要のある場合に殺菌することができる。

【0031】

本発明のもう1つの別形態は、下基板の上にフォトリソグラフィ法で形成されたスペーサⅠがスペーサⅠとスペーサⅠⅠの平行配置にほぼ一致する幅を有すること、及び、上基板が粘着力によって下基板に固定されていることを特徴とする。本発明のこの別形態は、専ら上基板が電極構造を有さない場合にだけ適している。

【0032】

以下に、本発明を実施の形態に関して詳しく説明する。

【0033】

本発明の3次元マイクロフローセルが図1から分かる。この3次元マイクロフローセルは、約 $750\text{ }\mu\text{m}$ の厚さのガラス製の下基板1と上基板2とから構成される。この場合、上基板は、同様に $150\text{ }\mu\text{m}$ の厚さのガラス製である。この場合、ここでは $250\text{ nm} \cdots 450\text{ nm}$ の間の波長範囲内で十分な透明性を呈するその他の材料も使用され得る。1本の流路3が、両基板1と2との間に存在する。この流路3は、その両端部にそれぞれ液体を供給し排出する液体の貫通接触部4を有する。この流路3の横が、その全長の延長部分に沿ってスペーサⅠ5ともう1つのスペーサⅠⅠ6とによって仕切られる。このスペーサⅠⅠ6の両側が、流路3の外側でスペーサⅠに並んで延在している。

【0034】

さらに、電極構造体7が、上基板2の上と下基板1の上に存在する。この電極構造体7は、導体テープ8を介して外部接触子9に接続されている。

【0035】

下基板1上の導体テープ8とは対照的に、上基板2の上の導体テープ8は、接触パッド10で終わる。これらの接触パッド10は、伝導性接着剤、半田パッド又は μ ボール（マイクロ半田球）18を用いて下基板1の上の外部接触子9に電気接続されている。

【0036】

さらに、下基板の全ての外部接触子9が、接触支持部11内で統合されている。この接触支持部11は、相互に絶縁する働きをさらに有する。

【0037】

細胞12又は生物粒子等を流路3内部の所定の場所に静電的に固定するため（図5参照）、電極構造体7が微小電極13を有する。これらの微小電極13はそれぞれ、下基板1の上と上基板2の上で流路に向かって突出していて、3次元的に精確に位置決めされている。

【0038】

基板1と基板2との間の基板にわたって一定な空間距離を確保するため、間隔ホルダ14がさらに設けられている。

【0039】

個々の構造物を下基板1の上に形成することをより具体的に説明できるようにするため、図2は対応する手順を示す。これに対して、ガラス製の下基板1が、必要な液体の貫通接触部4を流路3に向けて後に実現できるようにするために最初に作られる。引続き、電極構造体7、導体テープ8及び外部接触子9が、通常の薄膜技術とフォトリソグラフィを使

用して下基板 1 に形成される。引続き、この構造体の全体が、無機物の絶縁材料 15 を用いて全面的に絶縁される。引続き、有効な電気構造体を形成できるようにするため、この絶縁体 15 は、その後に形成される流路 3 の領域内と外部接触子 9 で再び除去される。

【0040】

次いで、重合体から成るスペーサ I 5 が下基板 1 上に形成されることによって、流路 3 が、下基板 1 の上に形成される。明らかに、スペーサ I を上基板 2 の上にさらに形成してもよい。高粘性の陽性フォトリソレジスト、陰性乾燥レジスト又はシルク・スクリーン・プリンティングを用いて被覆された重合体膜が、スペーサ I 5 を形成するために利用され得る。全ての 3 つの形態が、スペーサ I 5 の形成を可能にする。これらの 3 つの形態は、厚さが $10\ \mu\text{m} \sim 100\ \mu\text{m}$ の範囲内にあり得るスペーサ I 5 の形成を可能にする。流路 3 の高さが、スペーサ I 5 の厚さによって同時に確定される点が各場合で重要である。

10

【0041】

引続き、スペーサ I 5 が、加熱作用又は紫外線作用によって硬化される。このスペーサ I 5 は流路 3 が後に確保しなければならない厚さを硬化後に精確に有する点がこのステップで非常に重要である。

【0042】

さらに、スペーサ I I 6 が、スペーサ I 5 を包囲するようにプリントによって又はディスペンサを使用して下基板 1 の上に被覆される。スペーサ I I 6 の厚さは、スペーサ I 5 の厚さよりも大きい。エポキシ樹脂又はシリコンゴムの母材を用いた接着剤が、各場合にスペーサ I I 6 として使用される。

20

【0043】

スペーサ I に沿って延在する 1 本の浅い凹部を、公知のフォトリソグラフィ法を使用してスペーサ I の表面に形成すること、そしてスペーサ I I (接着剤) をこの浅い凹部内に沿って分散させるか又はプリントする。この凹部の深さは、 $10 \sim 35\ \mu\text{m}$ である。

【0044】

次いで、上基板と下基板 1 とが、調整された位置で接着される。

【0045】

この形態の利点は、サンドイッチ系 (Sandwich-Systeme) も $20 \sim 50\ \mu\text{m}$ より遙かに大きい空間高さで実現され得る点にある。

30

【0046】

上基板 2 の場合、電極構造体 7 だけが、下基板の上と同じ方法で図 3 a にしたがって形成され、かつ導体テープを介して接触パッド 10 に接続される。引続き、この構造体も、有機的か又は無機的な電気絶縁材料 15 によって絶縁される。この場合、引続き、その後に形成される流路と接触パッド 10 の領域内の電極構造体 7 が、絶縁材料 15 を除去することによって再び露出される。

【0047】

その後、上基板 2 が下基板の上で精確に位置決めされて引続き装着されることによって、フリップ・チップ搭載が図 3 にしたがって実施される。熱が同時に供給されて、スペーサ I I 6 を硬化させ、そして図 1, 4, 5 中に示されたように 3 次元構造体を形成する。

40

【0048】

必要な電気接触子を上基板の上の接触パッド 10 間に形成できるように、そして外部接触子 9 を下基板の上に形成できるようにするため、適切な伝導性接着剤 16 が、フリップ・チップ搭載前に端子に向かって分散される。

【0049】

接着剤が取付け工程の間に流路 3 内に浸入することを阻止するため、スペーサ I 5 に沿って延在する、例えば 1 本の V 字状の溝又は凹部をこのスペーサ I 5 の表面上に形成してもよい。このことは、公知のフォトリソグラフィ法を用いて問題なく可能である。さらにこれによって、構造の全体のより高い強度が得られる。

【0050】

光学検出の間に流路 3 内に空間的に固定された細胞 12 を照射するときに、スペーサ I 5

50

の流路側壁が、邪魔なルミネセンスを既に発生しているので、例えば液浸対物レンズ (Immersion objective) で高分解能に光学検出をするためには、空間材料の固有ルミネセンスを適切に隠すことが必要である。

【0051】

このような妨害を排除するため、光を通さないブラインド17が、図6にしたがって設けられ得る。このブラインド17は、流路3の縁部を覆い、かつ中央領域を露出させる。このブラインド17は、金属で構成可能でかつ調整された薄膜から製造され得る。このようなブラインドの場合によっては可逆に構成するため、簡単に除去可能な層系を使用することが重要である。その結果、流路3の横断面の全体が、必要な場合に観察され得る。

【0052】

このようなブラインド17の特別な利点は、流路3を仕切る材料のこのとき同時に誘因となるルミネセンスが散乱光によって引き起こされる邪魔な影響を及ぼすことなしに、生物細胞12のルミネセンスに基づく検出が流路3内で実施できる点である。もう1つの利点は、このブラインド17によって光学系内に追加のブラインドを設ける必要がもはやない点である。このことは、光学系により高い光度をもたらす。

ブラインド17は、好ましくは電磁ビームと生体電気ビームに対する内部と外部とからの遮蔽としても形成され得る。これによって、規則的に存在する電子スモッグが、細胞の検出に有害な影響を及ぼしうることが確実に阻止される。

最も簡単な場合、ブラインド17は金属から製造され得る。この場合、ブラインド17は、フォトリソグラフィック法で構成可能な薄膜からも、例えば Cu, Al 又はその他の金属から形成され得る。

【0053】

したがって、ブラインド17は、マイクロフローセルを傷つけることなしにエッチングによって簡単に除去され得る。

【0054】

ブラインド17による光学遮蔽だけを重視する場合は、このブラインド17は、当然にその他の材料、例えば合成樹脂からも製造され得る。

【0055】

特別な場合には、上基板1が下基板2に取り外し可能に接合されていることが望ましい。この場合、本発明の特別な別形態は、シリコンゴムから成るスペーサ116がスペーサ115上に印刷されていて、上基板2と下基板1が、加硫後に摩擦連結的に互いに接合されていることを特徴とする。この摩擦連結的な接合は、簡単な締め付け装置によって実現され得る。

【0056】

最も簡単な場合には、すなわち上基板が電極構造体7を有さない場合は、下基板1の上にフォトリソグラフィ法で形成されたスペーサ115がスペーサ115とスペーサ116の平行配置にほぼ一致する幅を有するときに(図5)、3次元マイクロフローセルの構造が著しく簡素化され得る。この場合、上基板2が、粘着力だけによって下基板1に固定されている。これに対しては、第1スペーサ1(5)の接触面が上基板と完全に平坦であることが前提条件である。

【図面の簡単な説明】

【図1】

3次元マイクロフローセルの概略的な正面図である。

【図2】

3次元マイクロフローセルの下基板の製造手順を示す。

【図3】

3次元マイクロフローセルを完成させるための取り付け手順を示す。

【図4】

ガラス・ガラスモデルとしての図3に相当する3次元マイクロフローセルの断面図である。

10

20

30

40

50

【図 5】

フリップ・チップ接触部を有する 3 次元マイクロフローセルの断面図である。

【図 6】

銅ブラインドを有する 3 次元マイクロフローセルを示す。

【符号の説明】

- 1 下基板
- 2 上基板
- 3 流路
- 4 液体の貫通接触部
- 5 スペーサ I
- 6 スペーサ I I
- 7 電極構造体
- 8 導体テープ
- 9 外部接触子
- 10 接触パッド
- 11 接触支持部
- 12 細胞
- 13 微小電極
- 14 間隔ホルダ
- 15 絶縁体
- 16 導体接着部
- 17 ブラインド
- 18 μ ボール

10

20

【国際公開パンフレット】

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHT INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



INTERNATIONALE VERÖFFENTLICHUNGSSAMMELN

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
14. März 2002 (14.03.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungssnummer
WO 02/21115 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation: G01N 17/447, B01L 3/00 (71) Anmelder für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US: GESIM GESELLSCHAFT FÜR SILIZIUM-MIKROSYSTEME MBH (DE/DE); Rosendorfer Technologiezentrum, Rosendorfer Landstrasse 45, 01454 Rosenthalsdorf (DE).
- (71) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE01/00324 (72) Erfinder und (73) Erfinder/Aussender (nur für US): HOWITZ, Steffen (DE/DE); Womser Strasse 58, 01309 Dresden (DE); FUHR, Günter (DE/DE); Kavalierstrasse 15, 10187 Berlin (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 1. September 2001 (09.09.2001) (74) Anwalt: LIPPERT, STACHOW, SCHMIDT & PARTNER; Knechtstrasse 3, 01309 Dresden (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 44 333.8 7. September 2000 (07.09.2000) DE 101 04 957.9 3. Februar 2001 (03.02.2001) DE

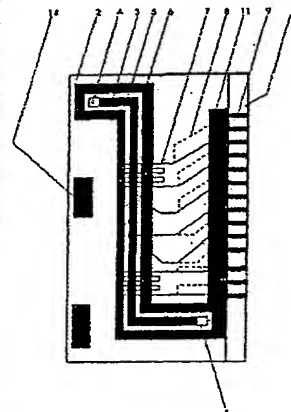
[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) TITEL: METHOD FOR PRODUCING A 3-D MICRO FLOW CELL AND A 3-D MICRO FLOW CELL

(54) Übersetzung: VERFAHREN ZUM HERSTELLEN EINER 3-D-MIKRODURCHFLOSSZELLE UND 3-D-MIKRODURCHFLOSSZELLE



WO 02/21115 A1



gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing a 3-D micro flow cell and to a micro flow cell produced according to said method. The aim of the invention is to provide a method that is cost-effective and that achieves particularly constant geometric parameters. According to the invention, the flow channel (3), a spacer I defining both sides of said channel (3), and additional spacers (14) consisting of a substantially non-compressible or curable material of a predetermined depth are applied at least to the lower substrate (1). Once applied, said spacers and flow channel are irreversibly fixed to the lower substrate (1) or upper substrate. A paste adhesive, acting as a spacer II (5), is applied with a uniform thickness around the outer periphery of spacer I (3) and the upper substrate (2) is subsequently positioned on the lower substrate (1) and joined thereto by force, heat or light, thus simultaneously sealing the flow channel (3).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle und eine nach dem Verfahren hergestellte Mikrodurchflusszelle. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und bei dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können. Erfindungsgemäß werden wenigstens auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseitig desselben definierende Spacer-I (3) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe aufgebracht, die nach dem Aufbringen mit dem unteren Substrat (1) bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden werden. Ausserhalb des Strömungskanals wird ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (5), den Spacer-I (3) parallel umlaufend, mit gleichmässiger Dicke aufgetragen und anschließend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Kraft-, Wärme oder Lichteinwirkung mit diesem verbunden, wobei

10

20

30

WO 02/21115 A1



(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist, Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Zur Erklärung der Zweisachstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

Verfügbarkeit:

— mit internationalem Recherchebericht

10

20

30

WO 92/11115

PCT/DE01/03324

Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle und
3-D-Mikrodurchflussszelle

5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss eines Flüssigkeitszu- und -ablaufes versehen wird. Die Erfindung betrifft ferner eine mit dem Verfahren hergestellte 3-D-Mikro-
15 durchflussszelle.

Derartige 3-D-Mikrodurchflussszellen werden beispielsweise als Zellmanipulatoren für die Handhabung und optische Analyse dielektrischer biologischer Partikel, insbesondere von Zellen und/oder Bakterien bzw. Viren, verwendet. Zu diesem Zweck sind die Mikrodurchflussszellen mit einem Strömungskanal ausgestattet, an dessen Enden ein oder mehrere Flüssigkeitszu- und -abläufe vorgesehen sind. Diese Flüssigkeitszu- und -abläufe werden beispielsweise durch sich senkrecht zum Strömungskanal erstreckende Durchkontaktierungen hergestellt. Die Höhe des Flüssigkeitskanales liegt in der Regel im Bereich von wenigen Mikrometern, wobei der Strömungskanal oben und unten durch Glassubstrate und/oder Siliziumsubstrate und seitlich durch entsprechende Kanalwandungen begrenzt wird. Um einzelne Zellen an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Flüssigkeitskanales "freischwebend" fixieren zu können, befinden sich im Flüssigkeitskanal Elektroden, die beim Anlegen einer elektrischen Spannung ein elektrisches Feld erzeugen. Die elektrostatisch fixierte Zelle kann dann durch eine geeignete Beleuchtung
35 beleuchtet und mittels eines Mikroskopes beobachtet werden.

10

20

30

WO 02/21135

PCT/DE01/03324

2

Um derartige dreidimensionale Strukturen realisieren zu können, sind verschiedene Technologien allgemein bekannt geworden. So kann z. B. ein Glassubstrat einseitig nasschemisch geätzt werden, um einen Strömungskanal in diesem auszubilden und nachfolgend mittels Diffusionsschweißen mit einem zweiten Glassubstrat als Deckelement verbunden werden. Die für das Handling von Zellen oder biologischen Partikeln erforderlichen Elektroden werden vorher auf das erste und/oder zweite Glassubstrat mittels bekannter Verfahren der Fotolithografie aufgebracht und das zweite Glassubstrat nachfolgend Face-down auf das untere Glassubstrat montiert.

Die Technologie des Diffusionsschweißens ist allerdings relativ teuer und die Möglichkeiten der in der Regel isotropen Glasstrukturierung sind begrenzt. Ein weiterer Nachteil ist darin zu sehen, dass nur relativ grobe Elektrodenstrukturen auf die strukturierten Glasoberflächen aufgebracht werden können. Um ein exaktes Handling einzelner Zellen oder biologischer Partikel realisieren zu können, ist jedoch eine äußerst präzise geometrische Ausbildung der Elektroden erforderlich, um diese Partikel elektrostatisch am gewünschten Ort berührungslos manipulieren und festhalten zu können.

Eine andere Technologie wird von Müller/Gradl/Howitz/Shirley-/Schnelle/Fuhr in der Zeitschrift "BIOSENSORS & ELECTRONICS", Heft 14 (1999), Seite 247 bis 256 beschrieben. Hierbei handelt es sich um die Anwendung der rein manuellen Epoxydharzklebtechnik, wobei zunächst ein Polymer-Spacer auf eine Glasoberfläche prozessiert wird, die vorher mit Platinelektroden und elektrischen Leitbahnen versehen worden ist. Anschließend wird das Glassubstrat mit einem Kunstharz, z.B. Epoxydharz, als Klebstoff außerhalb der Polymerstruktur bestrichen und danach darauf ein zweites Glas, welches ebenfalls mit Elektroden versehen ist, positioniert und der Verbund nachfolgend ver-

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

3

presst. Dieser Montageschritt wird üblicherweise mit einem sogenannten Die-Bonder (Chip-Bonder) ausgeführt.

Schwierigkeiten sind hier darin zu sehen, dass es problematisch ist, Mikrodurchflusszellen herzustellen, die immer exakt gleiche geometrische Abmessungen aufweisen und bei denen mit Sicherheit während des Montageprozesses kein Klebstoff in den Strömungskanal eindringt, der diesen teilweise verengen würde. Die Effizienz dieses Schrittes ist daher äußerst mangelhaft und für eine Massenproduktion nicht geeignet.

Weiterhin ist eine sogenannte Underfiller-Technik bekannt geworden, bei der ein Polymer-1 (Dicklack) auf das mit Elektroden versehene Glassubstrat aufgeschleudert wird, wobei die Dicke des aufgeschleuderten Polymers durch die Höhe des vorgesehenen Kanals vorgegeben wird. Aus diesem Polymer wird dann das Positiv-Kanalsystem strukturiert, d. h. der übrige Dicklack wird während dieser Fotostrukturierung vollständig entfernt. Anschließend wird dann das zweite Glassubstrat zum ersten Glassubstrat justiert und aufgepresst. Diese auf diese Weise gewonnene 3-D-Anordnung wird durch seitliches Einströmen eines kriechfähigen Klebers (Underfiller), einem Polymer-2, fixiert, wonach das Kanalsystem im Polymer-1 mit einem Lösungsmittel wieder ausgewaschen wird. Dabei darf das Lösungsmittel das Polymer-2 nicht angreifen. Besonders nachteilig ist hier, dass auf diesem Wege im Kanal keine inneren Strömungselemente herstellbar sind, weil diese vom Polymer-2 nicht erreicht werden können. Außerdem ist diese Technik äußerst zeitaufwändig und hinsichtlich der Strukturauflösung begrenzt.

Der Erfindung liegt nunmehr die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle aufzuzeigen, welches kostengünstig realisiert werden kann und mit dem insbesondere gleichbleibende geometrische Parameter realisiert werden können. Der Erfindung liegt ferner die Aufgabe zugrunde,

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

4.

eine 3-D-Mikrodurchflusszelle zu schaffen, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren kostengünstig hergestellt werden kann.

- 5 Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird bei einem Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflusszelle, bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei
10 wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, dadurch gelöst, dass wenigstens auf dem unterem Substrat den Strömungskanal beidseits desselben
15 definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter aus einem im wesentlichen nichtkompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des
20 Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II gleichmäßiger Dicke aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat auf dem unteren Substrat positioniert und unter Kraft- und Wärmeeinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal abgedichtet wird.
- 25 Dieses einfach zu realisierende Verfahren gewährleistet einerseits eine äußerste Präzision der geometrischen Abmessungen des Strömungskanales und andererseits eine vollständige und einfache Abdichtung desselben, ohne dass die Gefahr besteht,
30 dass Klebstoffmengen in den Strömungskanal eindringen, die diesen verengen könnten.

- In einer ersten Fortführung der Erfindung wird der Spacer-II unmittelbar neben dem Spacer-I, diesen parallel umfassend,
35 aufgetragen, wobei die Dicke des Spacers-II vor der Montage

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE91/03324

5

größer ist, als die Höhe des Spacers-I.

In einer besonderen Variante der Erfindung wird der Spacer-I mit einer Länge desselben verlaufenden Grube versehen und der pastöse Spacer-II in diese Grube dispensiert oder gedruckt. Durch diese Variante wird das Eindringen von Kleber (Spacer-II) in den Strömungskanal beim Aufsetzen des oberen Substrates auf das untere Substrat und beim nachfolgenden Verpressen sicher verhindert. Darüberhinaus lassen sich problemlos auch größere Spacerhöhen realisieren.

Die flache Grube kann mit den üblichen Mitteln der Fotolithografie hergestellt werden.

Für die Herstellung der Spacer-I und der Abstandshalter bestehen unterschiedliche Möglichkeiten. So können die Spacer-I und die Abstandshalter mittels Siebdruck, oder Dispensieren auf das untere Substrat aufgebracht und anschließend gehärtet werden, wobei das Härten beispielsweise durch Wärmeeinwirkung oder durch Licht- bzw. UV-Bestrahlung vorgenommen werden kann.

Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Spacer-I und die Abstandshalter auf dem unteren Substrat mittels fotolithografischer Verfahren herzustellen und anschließend durch Tempern zu härten. Vorzugsweise werden hierzu der Spacer-I und die Abstandshalter aus einem fotostrukturierbaren Resist, hergestellt, wobei die Restdicke die Höhe des Strömungskanales definiert. Fotolithografische Verfahren ermöglichen gegenüber dem Siebdruck eine geringere Kantenrauigkeit und damit eine größere Präzision, so dass feinere Strukturen hergestellt werden können.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Spacer-I und die Abstandshalter aus einer vorstrukturierten, wenigstens einseitig klebenden Metall- oder Polymerfolie herzustellen und auf

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

6

das untere Substrat aufzukleben.

Für die Befestigung des oberen Substrates auf dem unteren Substrat, d. h. zum Herstellen der 3-D-Struktur, wird vorzugsweise ein Klebstoff als Spacer-II auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet. Die Herstellung der Verbindung des oberen mit dem unteren Substrat kann unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder Licht- bzw. UV-Bestrahlung erfolgen.

10

Die der Erfindung zugrunde liegende Aufgabenstellung wird ferner durch eine 3-D-Mikrodurchflussszelle gelöst, die aus einem unteren und einem oberen Substrat besteht, wobei zwischen den Substraten ein mit fluidischen Durchkontaktierungen versehener Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten verbundenes Elektrodensystem durchdringt und die dadurch gekennzeichnet ist, dass wenigstens auf dem unteren Substrat den Strömungskanal definierende Spacer-I sowie zusätzliche Abstandshalter aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbaren Material vorgegebener Höhe angeordnet sind, die mit dem unteren bzw. oberen Substrat irreversibel fest verbunden sind, und dass das obere Substrat mit dem unteren Substrat den Strömungskanal dicht verschließend, mittels einer pastösen, härtbaren Klebstoffschicht, einen Spacer-II bildend, verbunden ist.

20

In einer ersten Ausgestaltung der Erfindung erstreckt sich der Spacer-II beidseits außerhalb des Strömungskanales auf der Außenseite des Spacers-I, diesen parallel umfassend.

In einer zweiten Ausgestaltung der Erfindung ist in der Oberfläche des Spacers-I eine flache Grube zur Aufnahme eines pastösen Spacers-II eingearbeitet, wodurch während des Montagevorganges das obere Substrat auf dem unteren Substrat das Eindringen von Kleber in den Strömungskanal sicher verhindert wird.

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

7

Die Dicke der Spacer-I und der Abstandshalter muss gleich groß sein und sollte zwischen 10 µm und 1 mm in Abhängigkeit von der vorgesehenen Höhe des Strömungskanales liegen.

5 In Fortführung der Erfindung kann wenigstens eines der beiden Glassubstrate eine Dicke von 250 µm ... 1000 µm aufweisen und das andere 500 µm ... 1000 µm dick sein. So erhält der Verbund eine ausreichende mechanische Stabilität und ist zugleich für
10 den Einsatz hochauflösender Mikroskopie geeignet.

Das obere Substrat kann auch aus einer Kunststoff-Folie, beispielsweise einer Polymerfolie, mit einer Dicke von 170 µm bis 200 µm, bestehen.

15 Eine weitere Ausgestaltung der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanales wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 nm bis 450 nm optisch transparent ist. Dies kann einfach durch Auswahl geeigneter Materialien für
20 das untere und das obere Substrat realisiert werden.

Die Erfindung ist in einer weiteren besonderen Ausgestaltung dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das obere oder das untere Substrat jeweils metallische Mikroelektroden aufweist,
25 die in einem vorgegebenen dreidimensionalen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat Face-down auf dem unteren Substrat montiert ist. Die Mikroelektroden des oberen Substrates sind mit Kontaktpads versehen und mit den Außenkontakten auf dem unteren Substrat mittels Leitkleber,
30 Leitgummi oder Löt pads elektrisch verbunden.

Die Mikroelektroden können aus einem Dünnschichtsystem, aus Platin, Gold, Tantal, Titan, Aluminium oder einem leitfähigen ITO (Indium-Tin-Oxid) bestehen.

35

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

8

In einer besonderen Ausgestaltung der Erfindung ist das Elektroden- und Anschlusssystem auf dem oberen und dem unteren Substrat mittels eines anorganischen Isolatormaterials ganzflächig isoliert, wobei das Isolatormaterial im inneren des Strömungskanales, auf den Kontaktpads sowie auf den Kontaktsupports ausgespart ist, um eine ausreichende elektrische Kontaktierung an diesen Stellen zu ermöglichen.

Um eine durch das Polymer des Spacers-I - der den Strömungskanal bildet - bei Lichtanregung verursachte Eigenfluoreszenz während der optisch-mikroskopischen Detektion auszublenden, ist auf der Außenseite des oberen Substrates eine zumindest lichtundurchlässige Blende in der Weise angebracht, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen zentraler Bereich freigehalten ist. Der besondere Vorteil einer solchen Blende ist, dass eine fluoreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen im Strömungskanal erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig verursachte Fluoreszenz der den Kanal begrenzenden Materialien einen störenden Einfluss ausüben würde.

Die Blende kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Wellen ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass eine gegebenenfalls einwirkende elektromagnetische Strahlung einen negativen Einfluss auf die Zellen selbst und damit das Detektionsergebnis ausüben kann.

Im einfachsten Fall besteht die Blende aus Metall, wobei diese auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnfilm, z.B. aus Cu oder Al, bestehen kann.

Dieser Dünnfilm sollte zweckmäßigerweise ablösbar sein, so dass im Bedarfsfall der Strömungskanal in gesamter Breite optisch untersucht werden kann.

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

9

Um die Ausbildung eines Kleberfilmes auf der Innenseite des Strömungskanales möglichst zu verhindern, ist in einer besonderen Fortführung der Erfindung der Spacer-I in seiner Kontaktfläche mit einer Nut oder mit einer anderweitig längs desselben verlaufenden Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff während des Montageprozesses versehen.

In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere Substrat lösbar mit dem unteren Substrat verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I aus einem Fotoresist und der Spacer-II aus einem gedruckten Silikonkautschuk bestehen und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat kraftschlüssig, fluidisch dicht und reversibel miteinander verbunden sind. Dadurch lässt sich diese 3-D-Mikrodurchflusszelle nach Gebrauch wieder öffnen und bei Bedarf sterilisieren.

Eine weitere besondere Variante der Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat hergestellte Spacer-I eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I und Spacer-II entspricht und dass das obere Substrat durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat befestigt ist. Diese Variante der Erfindung ist allerdings nur für solche Fälle geeignet, in denen das obere Substrat keine Elektrodenstruktur enthält.

Die Erfindung soll nachfolgend an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert werden. In den zugehörigen Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 eine schematische Draufsicht auf eine 3-D-Mikrodurchflusszelle;

Fig. 2 eine Sequenz der Herstellung des unteren Substrates

10

20

30

WO 02/21135

PCT/DE01/03324

10

der 3-D-Mikrodurchflussszelle;

Fig. 3 die Montage-Sequenz zur Fertigstellung der 3-D-Mikro-
durchflussszelle;

5 Fig. 4 eine Schnittdarstellung der 3-D-Mikrodurchflussszelle
entsprechend Fig. 3 als Glas-Glas-Modul;

10 Fig. 5 eine Schnittdarstellung einer 3-D-Mikrodurchflussszelle
mit Flip-Chip-Kontaktierung; und

Fig. 6 eine mit einer Cu-Blende versehene 3-D-Mikrodurch-
flussszelle.

15 Aus der Zeichnungsfigur 1 ist eine erfindungsgemäße 3-D-Mikro-
durchflussszelle ersichtlich, die aus einem unteren Substrat 1
aus Glas mit einer Dicke von ca. 750 µm und einem oberen
Substrat 2 besteht. Das obere Substrat besteht im vorliegenden
Fall ebenfalls aus Glas mit einer Dicke von etwa 150 µm, wobei
20 hier auch andere Materialien verwendet werden können, die im
Wellenlängenbereich zwischen 250 ... 450 nm eine ausreichende
Transparenz aufweisen. Zwischen beiden Substraten 1 und 2
befindet sich ein Strömungskanal 3, der an seinen Enden jeweils
mit einem fluidischen Durchkontakt 4 zur Zu- und Ableitung
25 einer Flüssigkeit versehen ist. Der Strömungskanal 3 wird in
seiner gesamten Längsausdehnung seitlich durch einen Spacer-I 5
und einen weiteren Spacer-II 6 begrenzt, der sich beidseits
außerhalb des Strömungskanales 3 neben dem Spacer-I erstreckt.

30 Weiterhin befindet sich auf dem oberen Substrat 2 und dem
unteren Substrat 1 eine Elektrodenstruktur 7, die über Leit-
bahnen 8 mit Außenkontakten 9 verbunden ist.

In Gegensatz zu den Leitbahnen 8 auf dem unteren Substrat 1
35 enden die Leitbahnen 8 auf dem oberen Substrat 2 in Kontaktpads

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

11

10, die mittels Leitleber oder Löt pads bzw. μ -Balls (Mikrolöt kugeln) 18 mit den Außenkontakten 9 auf dem unteren Substrat 1 elektrisch verbunden sind.

- 5 Ferner sind sämtliche Außenkontakte 9 auf dem unteren Substrat 1 in einem Kontaktsupport 11 zusammengefasst, der die Aufgabe einer zusätzlichen gegenseitigen Isolation hat.

- Zur elektrostatischen Fixierung von Zellen 12 bzw. biologischen Partikeln o.dgl. an einem vorgegebenen Ort innerhalb des Strömungskanales 3 (vgl. Fig. 5) enthält die Elektrodenstruktur 7 Mikroelektroden 13, die jeweils auf dem unteren Substrat 1 und dem oberen Substrat 2 in den Strömungskanal hineinragen und dreidimensional exakt positioniert sind.

- 15 Zur Erzielung eines über das Substrat konstanten Spacerabstandes zwischen den Substraten 1, 2 sind weiterhin noch Abstandshalter 14 vorgesehen.

- 20 Um die Ausbildung der einzelnen Strukturen auf dem unteren Substrat 1 besser veranschaulichen zu können, zeigt Fig. 2 eine entsprechende Sequenz. Dazu wird das untere Glassubstrat 1 zunächst gebohrt, um später die erforderlichen fluidischen Durchkontakte 4 zum Strömungskanal 3 realisieren zu können.

- 25 Anschließend wird das untere Substrat 1 mit Hilfe der üblichen Dünnschichttechnik und Fotolithografie mit der Elektrodenstruktur 7 und den Leitbahnen 8, sowie den Außenkontakten 9 versehen. Die gesamte Struktur wird anschließend ganzflächig mittels eines anorganischen Isolatormaterials 15 isoliert. Dieser Isolator 15 wird anschließend im Bereich des künftigen Strömungskanales 3, sowie an den Außenkontakten 9 wieder entfernt, um wirksame elektrische Strukturen herstellen zu können.

- Nachfolgend wird der Strömungskanal 3 auf dem unteren Substrat 1 ausgebildet, indem ein Spacer-I 5 aus einem Polymer auf dem

10

20

30

WO 02/21135

PCT/DE01/03334

12

unteren Substrat 1 aufgebracht wird. Selbstverständlich kann der Spacer-I auch zusätzlich auf dem oberen Substrat 2 ausgebildet werden. Für die Herstellung des Spacers-I 5 kann ein hochviskoser positiv Fotoresist, ein negativ Trockenresist oder ein mittels Siebdruck aufgebrachter Polymerfilm genutzt werden. Alle drei Varianten ermöglichen die Herstellung eines Spacers-I 5. Diese drei Varianten ermöglichen die Herstellung eines Spacers-I 5, der eine Dicke im Bereich von 10 µm und 100 µm aufweisen kann. Wichtig ist in jedem Falle, dass mit der Dicke des Spacers-I 5 zugleich die Höhe des Strömungskanales 3 festgelegt wird.

Anschließend wird der Spacer-I 5 durch Wärmeeinwirkung oder UV-Strahlung gehärtet. Ganz wesentlich bei diesem Schritt ist, dass der Spacer-I 5 nach dem Härten genau die Dicke aufweist, die später der Strömungskanal 3 besitzen soll.

Darauf hin wird der Spacer-II 6, den Spacer-I 5 umgebend, auf das untere Substrat 1, durch Drucken oder mit Hilfe eines Dispensers aufgebracht. Die Dicke des Spacers-II 6 ist größer als die des Spacers-I 5. Als Spacer-II 6 wird in jedem Fall ein Kleber auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk verwendet.

Es ist auch möglich, in der Oberfläche des Spacers-I eine längs desselben verlaufende flache Grube mit Hilfe bekannter fotolithografischer Verfahren auszubilden und in diese den Spacer-II (Kleber) zu dispensen oder zu drucken. Die Tiefe der Grube liegt zwischen 10 - 35 µm.

Das Verkleben des oberen mit dem unteren Substrat 1, 1 erfolgt dann in justierter Lage.

Der Vorteil dieser Variante besteht darin, dass auch Sandwich-Systeme mit deutlich größerer Spacerhöhe über 20 - 50 µm

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

13

realisiert werden können.

Bei dem oberen Substrat 2 wird entsprechend Fig. 3a lediglich eine Elektrodenstruktur 7 auf gleiche Weise erzeugt wie auf dem unteren Substrat und über Leitbahnen mit Kontaktpads 10 verbunden. Auch diese Struktur wird anschließend mit einem organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterial 15 ganzflächig isoliert, wobei anschließend die Elektrodenstruktur 7 im Bereich des künftigen Strömungskanales sowie der Kontaktpads 10 durch Entfernen des Isolatormaterials 15 wieder freigelegt werden.

Danach erfolgt die Flip-Chip-Montage entsprechend Fig. 3, indem das obere Substrat 2 Face-down exakt über dem unteren Substrat positioniert und anschließend aufgesetzt wird. Gleichzeitig wird Wärme zugeführt, um den Spacer-II 6 auszuhärten und somit die 3-D-Struktur wie in Fig. 1, 4, 5 dargestellt, herzustellen.

Um die nötigen elektrischen Kontakte zwischen den Kontaktpads 10 auf dem oberen Substrat und den Außenkontakten 9 auf dem unteren Substrat herstellen zu können, wird vor der Flip-Chip-Montage ein geeigneter Leitleber 16 auf die Anschlüsse dispensiert.

Zur Verhinderung des Eindringens von Klebstoff in den Strömungskanal 3 während des Montagevorganges, kann auf der Oberfläche des Spacers-I 5 eine längs desselben verlaufende, z. B. V-förmige Nut oder Grube eingearbeitet sein. Dies ist mittels der bekannten Verfahren der Fotolithografie problemlos möglich. Außerdem wird dadurch eine höhere Festigkeit der Gesamtstruktur erreicht.

Da schon die Kanalwandungen des Spacers-I 5 beim Beleuchten einer im Strömungskanal 3 räumlich fixierten Zelle 12 während der optischen Detektion eine störende Fluoreszenz erzeugen,

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

14

muss für die optisch hochauflösende Detektion an z.B. einem Immersionsobjektiv eines Mikroskopes eine geeignete Ausblendung der Eigenfluoreszenz des Spacermaterials erfolgen.

- 5 Um derartige Störungen auszuschließen, kann entsprechend Fig. 6 eine lichtundurchlässige Blende 17 vorgesehen werden, die den Rand des Strömungskanales 3 abdeckt und den zentralen Bereich freihält. Diese Blende 17 kann aus einem metallischen strukturierbaren und justierten Dünnsfilm hergestellt werden.
- 10 Um eine solche Blende ggf. reversibel zu gestalten, ist der Gebrauch eines leicht entfernbaren Schichtsystems sinnvoll, so dass bei Bedarf der gesamte Querschnitt des Strömungskanales 3 beobachtet werden kann.
- 15 Der besondere Vorteil einer solchen Blende 17 ist, dass eine fluoreszenzbasierte Detektion an biologischen Zellen 12 im Strömungskanal 3 erfolgen kann, ohne dass die dabei gleichzeitig veranlasste Fluoreszenz der den Kanal 3 begrenzenden Materialien einen durch Streulicht verursachten störenden
- 20 Einfluss ausüben würde. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, dass es durch die Blende 17 nicht mehr erforderlich ist, im optischen System eine zusätzliche Blende vorzusehen, was zu einer höheren Lichtstärke des optischen Systems führt.
- 25 Die Blende 17 kann vorteilhaft auch als Abschirmung von innen und außen für elektromagnetische und bioelektrische Strahlung ausgebildet sein, wodurch sicher verhindert wird, dass regelmäßig vorhandener Elektromog einen negativen Einfluss auf die Detektion der Zellen ausüben kann.
- 30 Im einfachsten Fall kann die Blende 17 aus einem Metall gefertigt werden, wobei die Blende 17 auch aus einem fotolithografisch strukturierbaren Dünnsfilm, z.B. aus Cu, Al oder einem anderen Metall, bestehen kann.
- 35

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03314

15

Damit kann die Blende 17 einfach durch Ätzen ohne Beeinträchtigung der Mikrodurchflusszelle entfernt werden.

Für den Fall, dass lediglich Wert auf eine optische Abschirmung durch die Blende 17 gelegt wird, kann diese natürlich auch aus anderen Materialien, z.B. einem Kunststoff, gefertigt werden.

In besonderen Fällen kann es wünschenswert sein, dass das obere Substrat 1 mit dem unteren Substrat 2 lösbar verbunden ist. Für diesen Fall ist eine besondere Variante der Erfindung dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-II 6 aus Silikongummi auf den Spacer-I 5 aufgedruckt ist und nach dem Ausvulkanisieren das obere und das untere Substrat 2, 1 kraftschlüssig miteinander verbunden werden. Die kraftschlüssige Verbindung kann durch eine einfache Klemmvorrichtung realisiert werden.

Im einfachsten Fall, d.h. wenn das obere Substrat keine Elektrodenstruktur 7 aufweist, kann eine wesentliche Vereinfachung des Aufbaues der 3-D-Mikrodurchflusszelle erreicht werden, wenn der fotolithografisch auf dem unteren Substrat 1 hergestellte Spacer-I 5 eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I 5 und Spacer-II 6 entspricht (Fig. 5), wobei das obere Substrat 2 lediglich durch Adhäsionskraft auf dem unteren Substrat 1 befestigt ist. Voraussetzung hierfür ist, dass die Kontaktfläche des ersten Spacers-I (5) mit dem oberen Substrat vollkommen eben ist.

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DK01/03334

16

Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle und
3-D-Mikrodurchflussszelle

5

Bezugszeichenliste

- 10 1 unteres Substrat
2 oberes Substrat
3 Strömungskanal
4 fluidischer Durchkontakt
5 Spacer I
15 6 Spacer II
7 Elektrodenstruktur
8 Leitbahn
9 Außenkontakt
10 Kontaktpad
20 11 Kontaktsupport
12 Zelle
13 Mikroelektrode
14 Abstandshalter
15 Isolator
25 16 Leitkleber
17 Blende
18 μ -Ball

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

17

Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle und
3-D-Mikrodurchflussszelle

5

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen einer 3-D-Mikrodurchflussszelle bestehend aus einem unteren und einem oberen Substrat, zwischen denen ein Strömungskanal angeordnet ist, den eine mit Außenkontakten verbundene Elektrodenstruktur durchdringt, wobei wenigstens eines der Substrate zunächst mit einer Leitbahn- und Elektrodenstruktur und an den Enden des Strömungskanales mit Durchkontaktierungen zum Anschluss von Flüssigkeitszu- und -abläufen versehen wird, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass wenigstens auf dem unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) beidseits desselben definierende Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material oder härtbarem Material vorgegebener Höhe aufgebracht werden, die nach dem Aufbringen mit dem unteren bzw. oberen Substrat (1; 2) irreversibel fest verbunden werden, dass außerhalb des Strömungskanales ein pastöser Klebstoff als Spacer-II (6) gleichmäßiger Dicke aufgetragen wird und dass anschließend das obere Substrat (2) auf dem unteren Substrat (1) positioniert und unter Kraft- und Wärmeeinwirkung mit diesem verbunden wird, wobei gleichzeitig der Strömungskanal (3) abgedichtet wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass der Spacer-II (6) unmittelbar neben dem Spacer-I (5), diesen parallel umfassend, aufgetragen wird, wobei die Dicke des Spacers-II (6) vor der Montage größer ist, als die Höhe des Spacers-I (5).

35

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

18

3. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet
c h n e t, dass in die Oberfläche des Spacers-I (5) eine
längs desselben verlaufende flache Grube eingearbeitet und
dass der pastöse Spacer-II (6) in diese Grube dispensiert oder
gedruckt wird.
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die
flache Grube durch fotolithografische Verfahren hergestellt
wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Spacer-I (5) und die
Abstandshalter (14) mittels Siebdruck wenigstens auf das
untere Substrat (1) aufgebracht und anschließend gehärtet
werden.
6. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet,
z e i c h n e t, dass das Härten durch Wärmeeinwirkung
und/oder durch Licht-Bestrahlung, wie UV-Bestrahlung,
vorgenommen wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
z e i c h n e t, dass Spacer-I (5) und Abstandhalter (14)
wenigstens auf dem unteren Substrat (1) mittels fotolitho-
grafischer Verfahren, oder durch Dispensieren hergestellt
und anschließend durch Tempern gehärtet werden.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet,
z e i c h n e t, dass der Spacer-I (5) und die Abstands-
halter (14) aus einem fotostrukturisierbaren Resist
hergestellt werden und die Restdicke die Höhe des
Strömungskanales (3) definiert.
9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
z e i c h n e t, dass Spacer-I (5) und Abstandhalter

10

20

30

WO 02/21135

PCT/DE01/03324

19

(14) aus einer vorstrukturierten, wenigstens einseitig klebenden Metall- oder Polymerfolie hergestellt und wenigstens auf das untere Substrat (1) aufgeklebt werden.

- 5 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, dass die Herstellung der
Verbindung des oberen Substrates (2) mit dem unteren Sub-
10 stratum unter Einwirkung von Druck und Wärme und/oder UV-
Strahlung erfolgt.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, dass ein Klebstoff als Spacer-
15 II (6) auf der Basis von Epoxydharz oder Silikonkautschuk
verwendet wird.
12. 3-D-Mikrodurchflussezelle, hergestellt nach dem Verfahren
nach einem der Ansprüche 1 bis 9, bestehend aus einem
unteren und einem oberen Substrat, wobei zwischen den
20 Substraten ein mit fluidischen Durchkontakten versehener
Strömungskanal angeordnet ist, den ein mit Außenkontakten
verbundenes Elektrodensystem durchdringt, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, dass wenigstens auf dem
unteren Substrat (1) den Strömungskanal (3) definierende
25 Spacer-I (5) sowie zusätzliche Abstandshalter (14) aus
einem im wesentlichen nicht kompressiblen Material, oder
härtbarem Material, vorgegebener Höhe angeordnet sind, die
mit dem unteren bzw. oberen Substrat (1; 2) irreversibel
fest verbunden sind, dass das obere Substrat (2) mit dem
unteren Substrat (1), den Strömungskanal (3) dicht
30 verschließend, mittels einer pastösen, härtbaren
Klebstoffschicht als Spacer-II (6) verbunden ist.
13. 3-D-Mikrodurchflussezelle nach Anspruch 12, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, dass sich der Spacer-II (6)
35 beidseits außerhalb des Strömungskanales (3) auf der Au-

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/A3324

20

ßenseite der Spacer-I (5) streifenförmig längs desselben erstreckt.

14. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass in der Oberfläche des Spacers-I (5) eine flache Grube zur Aufnahme eines pastösen Spacers-II (6) eingearbeitet ist

15. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Spacer I (5) und der Abstandshalter (14) gleich ist und zwischen ~ 10 µm und ~ 100 µm liegt.

16. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach den Ansprüchen 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das untere Substrat (1) aus Glas besteht und eine Dicke von ~ 250 µm ... 1000 µm aufweist.

17. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Kunststoff-Folie besteht.

18. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass das obere Substrat (2) aus einer Polymerfolie mit einer Dicke von 170...200 µm besteht.

19. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach den Ansprüchen 12 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich des Strömungskanales (3) wenigstens im Wellenlängenbereich von 250 bis 450 nm optisch transparent ist

20. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass wenigstens das obere Substrat (2) oder das untere Substrat

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03314

21

(1) metallische Mikroelektroden (13) enthält, die in einem vorgegebenen geometrischen Bezug zueinander stehen und dass das obere Substrat (2) Face-down auf dem unteren Substrat (1) montiert ist.

5 21. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroelektroden (13) des oberen Substrates (2) mit Kontaktpads (10) versehen und mit den Außenkontakten (9) auf dem unteren Substrat (1) durch Leitzkleber, Leitgummi oder Löt pads elektrisch verbunden sind.

22. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Mikroelektroden (13) aus Platin, Gold, Tantal, Titan, Aluminium oder ITO bestehen.

23. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass das Elektroden- und Anschlusssystem auf dem oberen und dem unteren Substrat (2; 1) mittels eines organischen oder anorganischen elektrischen Isolatormaterials ganzflächig isoliert ist, wobei das Isolatormaterial in Inneren des Strömungskanales, auf den Kontaktpads sowie auf den Kontaktsupports ausgespart ist.

24. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 12 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass auf der Außenseite des oberen Substrates (2) eine lichtundurchlässige Blende (17) in der Weise aufgebracht ist, dass der Randbereich des Strömungskanales abgedeckt, jedoch dessen zentraler Bereich freigehalten ist.

25. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Blende (17) als

10

20

30

WO 02/21135

PCT/DE01/03334

22

Abschirmung der suspendierten Zellen vor der Einwirkung elektromagnetischer Wellen ausgebildet ist.

26. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 25, d a d u r c h
5 g e k e n n z e i c h n e t, dass die Blende (17) aus Metall besteht.
27. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 26, d a d u r c h
10 g e k e n n z e i c h n e t, dass die Blende (17) aus einem fotolithografisch strukturierbaren Cu- oder Al-Dünnsfilm besteht.
28. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 25 bis
15 27, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass die Blende (17) ablösbar ist.
29. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach einem der Ansprüche 12 bis
20 28, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, dass in den Spacer-I (5) eine Nut oder anderweitige längs desselben verlaufende Vertiefung zur Aufnahme von Klebstoff eingearbeitet ist.
30. 3-d-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 12, d a d u r c h
25 g e k e n n z e i c h n e t, dass der Spacer-I (5) aus einem Fotoresist und der Spacer-II (6) aus einem gedruckten Silikonkautschuk bestehen und nach dem Ausvulkanisieren kraftschlüssig, fluidisch dicht und reversibel miteinander verbunden sind.
- 30 31. 3-D-Mikrodurchflussszelle nach Anspruch 12, d a d u r c h
g e k e n n z e i c h n e t, dass der fotolithografisch auf dem unteren Substrat (1) hergestellte Spacer-I (5) eine Breite aufweist, die im wesentlichen der Parallelanordnung von Spacer-I (5) und Spacer-II (6) entspricht und dass das
35 obere Substrat (2) durch Adhäsionskraft auf dem unteren

10

20

30

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

23

Substrat (1) befestigt ist.

10

20

30

PCT/DE01/03324

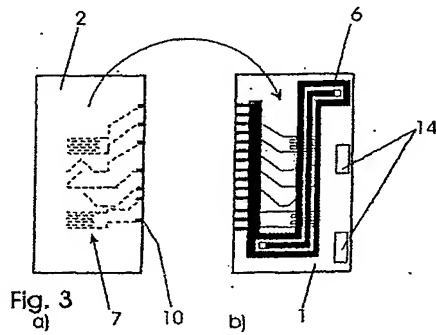
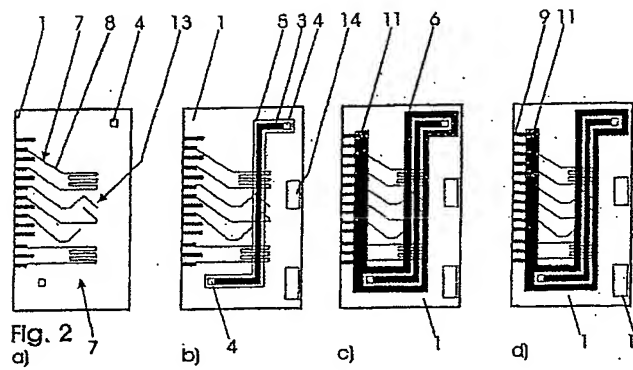
Fig. 1

30

WO 02/21115

PCT/DK01/03324

2/4



WO 02/21115

PCT/DE01/03334

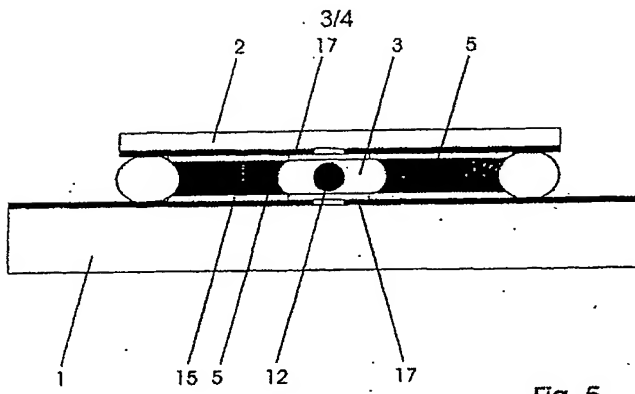


Fig. 5

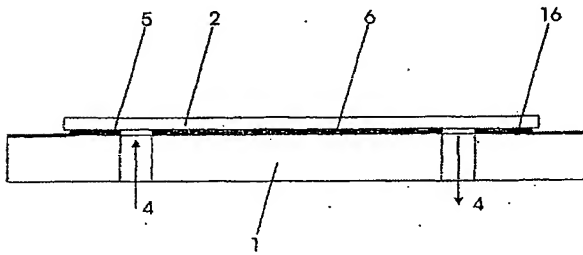


Fig. 4

WO 02/21115

PCT/DE01/03324

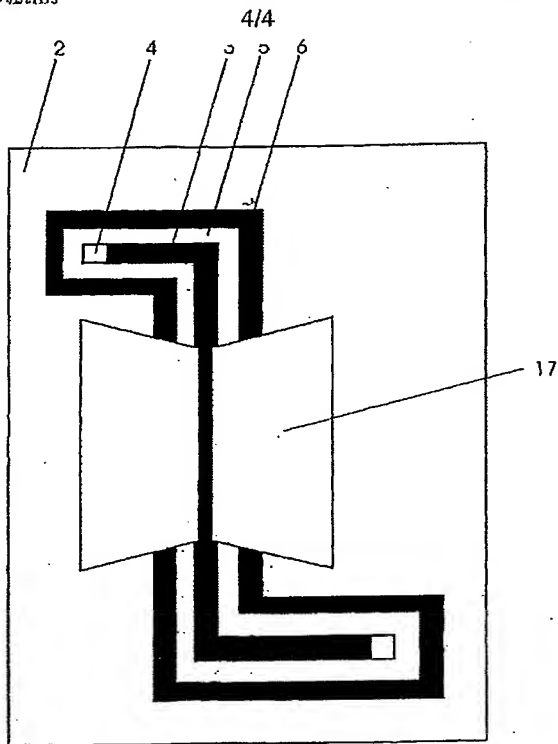


Fig. 6

10

20

30

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Int. No. PC/OL 040324
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G01N27/447 B01L3/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Mikropore documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 G01N B01L		
Documentation searched other than mikropore documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Databases consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 14, 15 March 1999 (1999-03-15), pages 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 page 249 -page 250; figure 3	1-31
A	WO 00 17630 A (RABBITT RICHARD D; UNIV UTAH RES FOUND (US); FRAZIER A BRUNO (US);) 30 March 2000 (2000-03-30) page 18, line 30 -page 20, line 15 -/-	1-31
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier documents but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step unless the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step unless the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 December 2001		Date of mailing of the international search report 16/01/2002
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.O. Box 5018 Patenthaus 2 7430 - 5280 HV Bonn Tel. (+31-70) 940-2240, Tx. 31 031 eps ol Fax: (+31-70) 340-3010		Authorized officer Nason, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inventor Application No PCT/DE 01/03324
C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Character of document, with indication, where appropriate, of the nature of the passage	Relevant to claim No.
A	JONES H L ET AL: "Hydrodynamic ECL (electrogenenerated chemiluminescence)" IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN, OCT. 1979, USA, vol. 22, no. 5, page 2065 XP002186348 ISSN: 0018-8689 figure 1	1-31
A	US 4 908 112 A (PAGE SALVATORE J) 13 March 1990 (1990-03-13) column 6, line 25 -column 8, line 10	1-31
A	US 6 045 676 A (NATHIES RICHARD A ET AL) 4 April 2000 (2000-04-04) column 3, line 20 -column 5, line 60	1-31
A	US 5 520 787 A (HANAGAN TED J ET AL) 28 May 1996 (1996-05-28) column 8, line 20 -column 9, line 30	1-31
A	US 5 141 868 A (SHANKS IAN A ET AL) 25 August 1992 (1992-08-25) column 6, line 50 -column 10, line 20	1-31
A	DE 37 39 333 A (NESSERSCHMITT BOELKOW BLOHM) 1 June 1989 (1989-06-01) claims 1,2	1-31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				Pat. No. / Int. No.	
				Pub. No. / Int. No.	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
WO 0017630	A	30-03-2000	US 6169394 B1	02-01-2001	
			AU 6149999 A	10-04-2000	
			WO 0017630 A1	30-03-2000	
US 4908112	A	13-03-1990	NONE		
US 6045676	A	04-04-2000	US 5906723 A	25-05-1999	
			AU 714163 B2	23-12-1999	
			AU 4090597 A	19-03-1998	
			CN 1235674 A	17-11-1999	
			EP 0922218 A1	16-06-1999	
			WO 9809161 A1	05-03-1998	
US 5520787	A	28-05-1996	AU 1911795 A	29-08-1995	
			CA 2179309 A1	17-08-1995	
			EP 0752099 A1	08-01-1997	
			JP 9509485 T	22-09-1997	
			WO 9522051 A1	17-08-1995	
US 5141868	A	25-08-1992	AT 62752 T	15-05-1991	
			AT 52856 T	15-06-1990	
			AT 41526 T	15-04-1989	
			AT 143289 T	15-10-1996	
			AU 2967289 A	25-05-1989	
			AU 583040 B2	20-04-1989	
			AU 4491085 A	10-01-1986	
			AU 588245 B2	14-09-1989	
			AU 4491185 A	10-01-1986	
			AU 581669 B2	02-03-1989	
			AU 4491385 A	10-01-1986	
			CA 1231136 A1	05-01-1988	
			CA 1246891 A1	20-12-1988	
			CA 1261256 A1	26-09-1989	
			DE 3568874 D1	20-04-1989	
			DE 3577748 D1	21-06-1990	
			DE 3582532 D1	23-05-1991	
			DE 3588124 D1	31-10-1996	
			DE 3588124 T2	20-02-1997	
			EP 0171148 A1	12-02-1986	
			EP 0170375 A2	05-02-1986	
			EP 0170376 A1	05-02-1986	
			EP 0422708 A2	17-04-1991	
			WO 8600135 A1	03-01-1986	
			WO 8600141 A1	03-01-1986	
			WO 8600138 A1	03-01-1986	
			JP 3010902 B	14-02-1991	
			JP 61502418 T	23-10-1986	
			JP 2527933 B2	28-08-1996	
			JP 61502419 T	23-10-1986	
			JP 2024459 B	29-05-1990	
			JP 61502420 T	23-10-1986	
			US 4978503 A	18-12-1990	
			US 4810658 A	07-03-1989	
DE 3739333	A	01-06-1989	DE 3744764 A1	01-06-1989	
			DE 3739333 A1	01-06-1989	

Form PCT/ISA/210 (patent family member) (Aug. 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Int. No. PCT/DE 01/03324
A. KLASSEINTEILUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 601N27/447 BOIL3/00		
Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHERTE GEBIETE Recherchierter Mindestpublizität (Klassifikationsystem und Klassifikationsystem) IPK 7 601N BOIL		
Recherchierter oder nicht zum Mindestpublizität gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsolidierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, INSPEC, COMPENDEX, BIOSIS		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der zu betrachtenden Teile	Seit. Anzahl Nr.
A	MUELLER T ET AL: "3-D MICROELECTRODE SYSTEM FOR HANDLING AND CAGING SINGLE CELLS AND PARTICLES" BIOSENSORS & BIOELECTRONICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 14, 15. März 1999 (1999-03-15), Seiten 247-256, XP000912020 ISSN: 0956-5663 Seite 249 -Seite 250; Abbildung 3	1-31
A	WO 00 17630 A (RABBITT RICHARD D; UNIV UTAH RES FOUND (US); FRAZIER A BRUNO (US);) 30. März 2000 (2000-03-30) Seite 18, Zeile 30 -Seite 20, Zeile 15	1-31
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Stille Achtung Patentrechte		
* Besondere Kategorien von eingereichten Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die dem allgemeinen Stand der Technik entspricht, aber nicht als besonders bedeuend anzusehen ist "B" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "C" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zu bestätigen, jedoch nicht als Prioritätsanspruch zu betrachten ist "D" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zu bestätigen, jedoch nicht als Prioritätsanspruch zu betrachten ist "E" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "F" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist		
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht übereinstimmt, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie beigetragen hat "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht aufgrund dieser Veröffentlichung als neu oder auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann relevant ist "Z" Veröffentlichung, die Mitglied desselben Patentrechts ist		
Datum des Abgabens des internationalen Rechercheberichts 27. Dezember 2001		Abmeldedatum der internationalen Rechercheanmeldung 16/01/2002
Name und Postanschrift der internationalen Recherchebehörde Europäisches Patentamt, P.O. Box 5010, München 2 D-85233 München Tel. (+49-79) 340-2440, Fax (+49-79) 340-2440 Fax (+49-79) 340-2440		Bewohnortiger Recherchierer Mason, W

Formular PCT/ISA/210 (Juli 1997)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		In a Altzeichen Folgerung 01/03324
C (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit ausdrücklich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beit. Anspruch Nr.
A	JONES H L ET AL: "Hydrodynamic ECL (electrogenated chemiluminescence)". IBM TECHNICAL DISCLOSURE BULLETIN, OCT. 1979, USA, Bd. 22, Nr. 5, Seite 2065 XP002186348 ISSN: 0018-8689 Abbildung 1	1-31
A	US 4 908 112 A (PACE SALVATORE J) 13. März 1990 (1990-03-13) Spalte 6, Zeile 25 - Spalte 8, Zeile 10	1-31
A	US 6 045 676 A (MATHIES RICHARD A ET AL) 4. April 2000 (2000-04-04) Spalte 3, Zeile 20 - Spalte 5, Zeile 60	1-31
A	US 5 520 787 A (HARAGAN TED J ET AL) 28. Mai 1996 (1996-05-28) Spalte 8, Zeile 20 - Spalte 9, Zeile 30	1-31
A	US 5 141 868 A (SHANKS IAN A ET AL) 25. August 1992 (1992-08-25) Spalte 6, Zeile 50 - Spalte 10, Zeile 20	1-31
A	DE 37 39 333 A (MESSERSCHMITT BOELKOW BLOHM) 1. Juni 1989 (1989-06-01) Ansprüche 1,2	1-31

Formblatt PATENTANFANG (Fortsetzung von Blatt 1, Jah. 1982)

Formulary PGT22422 (Vernalis Pharmaceuticals), Ltd. 19802

フロントページの続き

(74)代理人 100111486

弁理士 鍛冶澤 實

(72)発明者 ホーヴィッツ・シュテフェン

ドイツ連邦共和国、ドレスデン、ヴォルムザー・ストラーセ、5 8

(72)発明者 フーア・ギュンター

ドイツ連邦共和国、ベルリン、カヴァリーアストラーセ、1 5

F ターム(参考) 2G045 CB21 FB05 FB13 GC15

2G057 AA04 AA14 AC01 BA03 BA05 BB01 BB06 BD04

4B029 AA07 AA08 BB01 CC01 CC02 CC08 FA15 GA08 GB06 GB09

GB10